

U. PORTO



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO

Mestrado Integrado em Medicina

Dissertação | Revisão Bibliográfica

Controladores de Elite: O que os torna especiais? Revisão dos mecanismos de supressão natural da infecção por VIH-1

Maria Ana Mexia Alves Burbach Trêpa

Orientador: Prof. Carlos Vasconcelos

Porto 2013

Estudante

Nome Completo: Maria Ana Mexia Alves Burbach Trêpa

Estudante do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina

Nº de aluno: 071001156

Correio electrónico: maria_trp@hotmail.com

Orientador

Nome Completo: Carlos Alberto da Silva e Vasconcelos

Grau académico: Professor Associado

Título profissional: Chefe de Serviço. Director da Unidade de Imunologia Clínica

Afiliação

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar- Universidade do Porto

Rua de Jorge Viterbo Ferreira n.º 228, 4050-313 Porto, Portugal

Esta tese foi escrita em conformidade com o antigo acordo ortográfico da Língua Portuguesa

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Carlos Vasconcelos pela orientação desta tese, de uma forma clara e assertiva ajudando a focar o essencial e pelas respostas céleres a todas as minhas dúvidas.

À Dra. Ana Trêpa, minha mãe, pelo apoio, pelo exemplo e pelos valiosos conselhos.

Ao Luís pelas horas infindáveis de paciência, pela calma com que me ajudou a resolver os problemas informáticos e pelos conselhos essenciais.

"It's amazing what you feel when you sit down across the table from one of these people (elite controllers)," Walker said, his face flushed with excitement. "You just feel the answer is there. You've just got to fish it out."

Bruce Walker, investigador principal do *The HIV Controllers Study*

Resumo

Na vasta maioria dos infectados com o vírus da imunodeficiência humana (VIH) a replicação viral levará à depleção dos linfócitos T-CD4, à imunodeficiência e à morte. No entanto, num grupo de doentes conhecidos como Controladores de Elite, a replicação viral é naturalmente controlada para níveis que são indetectáveis pelos testes laboratoriais standard (<50 cópias RNA viral/mL sangue). Esta capacidade notável está actualmente no centro dos esforços para identificar correlações imunitárias de protecção contra o VIH. Existe hoje um consenso médico generalizado de que a identificação de factores específicos do hospedeiro e a compreensão das dinâmicas estabelecidas entre infectante e infectado, podem fornecer informação crítica para o desenvolvimento de novas estratégias clínicas, que visem a indução de uma cura funcional para a infecção pelo VIH.

Vários estudos foram conduzidos, sobretudo nos últimos 4 anos, tendo sido já postuladas algumas teorias relativas ao mecanismo primário pelo qual estes indivíduos raros controlam a replicação do VIH. Dos mecanismos já investigados parecem ser especialmente importantes: (1) a infecção por variantes virais com baixo *fitness* replicativo, (2) o estabelecimento de um controlo eficiente da replicação viral pelo sistema imunitário logo após a primoinfecção, (3) As baixas taxas de translocação microbiana e activação imunitária inferior com menor depleção de linfócitos T-CD4, (4) A presença de linfócitos citolíticos CD8 capazes de respostas mais rápida, expressivas e polifuncionais sendo mais eficazes no controlo da infecção.

Os estudos realizados até à data não tiveram sucesso em identificar uma característica comum em todos os controladores de elite. A investigação actual aponta para a existência de múltiplas variáveis envolvidas no controlo de elite as quais dependem de factores virais, genéticos, imunitários. Parece ser a interacção entre estes diferentes factores que estabelece o controlo de elite.

Palavras-chave

Controladores de Elite, VIH, linfócitos T-CD4, linfócitos T-CD8, células NK, HLA, GALT, *fitness* replicativo, reservatórios virais

Abstract

In the vast majority of people infected with the Human Immunodeficiency Virus (HIV) the depletion of CD4 lymphocytes will lead to immunodeficiency and death. However, in a subset of patients known as Elite Controllers, viral replication is naturally controlled to undetectable levels by standard laboratory essays (<50 copies of viral RNA/mL of blood). This remarkable capacity has been in the center of efforts to identify immune correlations of protection against HIV. Currently there is a generalized medical consensus that the identification of specific host factors and the comprehension of the dynamics between infected patient and infecting organism may provide critical insights for the development of new clinical strategies that aim a functional cure to HIV infection.

Several studies have been conducted, especially in the last four years, and some theories regarding the primary mechanism by which these rare individuals control HIV replication have been postulated. Between the researched mechanisms, the following seem to be of particular importance: (1) the infection with viral strains with low replicative fitness, (2) the setting of an effective viral replication control right after primary infection, (3) the low rates of microbial translocation and inferior immune activation with less depletion of CD4 T cells, (4) the presence of cytolytic CD8 T cells capable of faster and more polyfunctional responses that are more effective in infection control.

So far, the research has not been able to identify a common feature in all elite controllers. Current research points to the existence of multiple features involved in elite control whom depend on viral, genetic and immune factors. It appears to be the interaction between these factors that establishes the elite control.

Key Words

Elite Controllers, HIV, CD4 T cells, CD8 T cells, NK cells, HLA, GALT, Replicative *fitness*, Viral reservoirs

Índice

Resumo	5
Abstract	6
Lista de Abreviaturas	8
Introdução	9
Objectivo	11
Material e Metodologia	11
Definições	12
Epidemiologia dos Controladores de Elite.....	13
Controladores de Elite como modelo de cura funcional.....	14
Mecanismos do Controlo de Elite	15
É o vírus?	15
<i>Fitness</i> replicativo viral	15
Reservatórios virais.....	16
É o hospedeiro?.....	17
São os genes?	17
Qual o papel da imunidade inata no controlo de elite?	18
Qual o papel do tecido linfoide associado às mucosas?	21
Qual o papel da imunidade humoral?	23
Qual o papel dos linfócitos T-CD4?	24
Qual o papel dos linfócitos T-CD8?	28
Quadro-Resumo	30
Conclusão.....	31
Bibliografia	33
Anexos	38

Lista de Abreviaturas

VIH- Vírus da Imunodeficiência Humana

EC- Controladores de Elite do VIH (*do inglês- Elite Controllers*)

LTNP- Não progressores a longo prazo (*do inglês- Long-Term Non Progressor*)

TARV- Terapia Anti Retroviral de Alta Actividade

NK- Células assassinas naturais (*do inglês- Natural Killer*).

LT-CD4- Linfócitos T definidos fenotipicamente pela expressão de CD4

LT-CD8- Linfócitos T definidos fenotipicamente pela expressão de CD8

GALT- Tecido linfoide associado a mucosa intestinal (*do inglês- Gut Associated Lymphoid Tissue*)

HLA- Antígeno leucocitário humano (*do inglês- Human Leukocyte Antigen*)

MHC- Complexo de histocompatibilidade major (*do inglês Major histocompatibility complex*)

KIR- Receptor de imunoglobulinas assassino (*do inglês Killer Immunoglobulin Receptor*)

ADCC- Citotoxicidade celular dependente de anticorpos (*do inglês Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity*)

Introdução

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) foi reconhecida pela 1ª vez em 1981 pelo CDC (*United States Center for Disease Control and Prevention*) após a ocorrência de pneumonia por *Pneumocystis jirovecii* e de sarcoma de kaposi em homens homossexuais. Estes acontecimentos foram-se sucedendo e começaram a intrigar os médicos motivando a pesquisa de casos semelhantes e do patógeno responsável. Em poucos meses a SIDA foi identificada também em utilizadores de drogas injectáveis e em pessoas que receberam transfusões sanguíneas, tornando clara a hipótese de que o contacto sexual ou com sangue seriam a forma de transmissão do agente infeccioso. Já em 1983 o Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) foi isolado pela 1ª vez e em 1985, o desenvolvimento do teste de diagnóstico serológico (ELISA), permitiu a apreciação do espectro epidemiológico e da evolução da infecção por VIH consciencializando a comunidade médica mundial para a dimensão do problema e do seu potencial de crescimento.

Em 1996 a introdução da Terapia Antirretroviral de Alta Actividade (TARV) veio revolucionar o tratamento mudando dramaticamente a história natural da doença: nos 3 anos seguintes todos os indicadores de mortalidade e morbilidade relacionados com a SIDA tinham sido drasticamente reduzidos. Hoje a TARV continua a ser a base do tratamento. Os fármacos incluídos actuam contra praticamente todas as fases do ciclo de vida viral e acredita-se que consigam inibir toda a replicação activa. No entanto, esta terapia não é capaz de eliminar o vírus, o que acarreta várias limitações sobretudo relacionadas com a necessidade de toma crónica (que tem elevados custos monetários e por isso acesso difícil principalmente nos países em desenvolvimento) e uma alta taxa de efeitos laterais. Estes 2 factores são determinantes na má adesão verificada e contribuem para o aumento do número de infectados. No presente, verifica-se que o controlo da pandemia com TARV não será possível a uma escala global e não resolve o problema visto que não cura os infectados. Esta constatação tem fomentado a pesquisa de novas abordagens terapêuticas com objectivos curativos e não de limitação da progressão.

Actualmente, existem no Mundo 34 milhões de pessoas infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana(1). As projecções estimam que por cada indivíduo VIH positivo que iniciou TARV em 2007, 2 foram infectados de novo (2).

A grande maioria das pessoas, se não tratadas, acabará por sucumbir a complicações relacionadas com a progressão da infecção e o desenvolvimento de SIDA. No entanto, num subgrupo raro de doentes, conhecidos como controladores de elite (EC- *do inglês elite controllers*), a infecção não progride e estes mantêm níveis estáveis de linfócitos T-CD4 (LT-CD4), os alvos primários do VIH, e níveis de virémia indetectáveis por meios convencionais, sem tratamento (anexos-figura1). Esta extraordinária capacidade é apontada como a chave para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas. O estudo aprofundado dos mecanismos por detrás do controlo espontâneo e natural da replicação viral e da manutenção dos níveis de LT-CD4 pode fornecer informações críticas sobre as dinâmicas vírus-hospedeiro e revelar o alvo ideal de um novo fármaco ou vacina.

As expectativas são altas e existe já um estudo global denominado “ The International HIV Controllers Study” que juntou investigadores de todo o mundo, numa tentativa de obter o maior número possível de controladores de elite. Este esforço cooperativo notável tem como força motriz a enorme potencialidade que todos vêem na investigação dos mecanismos por detrás do controlo de elite.

Entretanto, o avanço da ciência nesta área é vertiginoso. Multiplicam-se os estudos, tornando quase impossível estar sempre a par das novas descobertas. A quantidade e qualidade da informação que hoje possuímos sobre a doença permite melhorar cada dia o seu tratamento e prevenção enquanto avançamos no sentido da tão desejada cura. Cada pequeno passo, cada pequena descoberta tem o seu papel.

Objectivo

O objectivo primordial deste trabalho é investigar os mecanismos inerentes ao controlo de elite.

Material e Metodologia

Nesta dissertação foram revistos os artigos relacionados com o controlo de elite do VIH publicados desde 2006 e destacados os achados relevantes de cada investigação. Foram pesquisadas publicações escritas em inglês, publicadas em bases de dados *online* nomeadamente o *pubmed* utilizando as palavras-chave mencionadas.

Esta revisão bibliográfica pretende abordar de forma sucinta e focada os estudos já realizados nas diferentes áreas de interesse no controlo de elite nomeadamente epidemiologia, genética, imunologia, infecilogia e virologia, sumarizando os achados mais importantes de cada trabalho publicado e integrando-os de modo a formar conclusões pertinentes e clarificadoras e apresentar com coerência e fundamentação as bases do controlo de elite.

Definições

A progressão da doença, a manifestação de sintomas, a descida dos níveis de LT-CD4 e o tempo decorrido de doença variam entre diferentes indivíduos traduzindo a complexidade das interações entre a patogenia viral e a resposta do sistema imunitário.

Esta variabilidade tornou necessária a criação de “grupos” de infectados por VIH, caracterizados pelos seus níveis de virémia, as suas contagens de LT-CD4 e sobretudo pela evolução destes valores ao longo do tempo.

Como se sabe, a maioria dos infectados, se não tratados, progride inexoravelmente para a depleção de LT-CD4 e aumentos progressivos da virémia que culminam no desenvolvimento de SIDA. Estes doentes pertencem ao grupo dos progressores e representam entre 85 e 98% dos infectados sendo que 5% destes são considerados progressores rápidos(3, 4).

Um outro grupo de doentes, os não-progressores a longo prazo (LTNP *do inglês-Long Term Non Progressors*) constitui 2-15% dos infectados e caracteriza-se por sobrevivência prolongada, com contagens de LT-CD4 normais. Os LTNP foram tradicionalmente definidos pelas contagens de LT-CD4, no entanto, o advento nos anos 90 dos doseamentos de carga viral de rotina, tornou possível a identificação de um subgrupo dentro dos LTNP que é capaz, não só de manter níveis de CD4 normais, mas também de controlar espontaneamente a virémia sem necessidade de TARV. Este grupo raro de indivíduos é genericamente conhecido como controladores de elite (EC).

Os controladores de elite representam aproximadamente 1% dos infectados segundo os achados de 2 grandes estudos epidemiológicos realizados nos EUA e em França (5, 6).

O Consórcio Internacional de Controladores do VIH e outras entidades de referência (3, 5, 7) definem os controladores de elite como aqueles indivíduos que tem 3 ou mais determinações de carga viral <50 cópias/mL, medidas com o mínimo de 1 ano de intervalo entre elas, em doentes que não faziam terapia antirretroviral há pelo menos 1 ano antes do início dos testes. Outros grupos exigiam virémia indetectável por pelo 2 anos e um grupo francês exigia >90% de doseamentos com virémia indetectáveis durante mais de 10 anos(3).

Como se depreende, no que toca aos controladores de elite, não existe ainda uma definição consensual e amplamente utilizada. Por isso, não é possível fazer referência sempre exclusivamente aos indivíduos que preenchem todos os critérios de EC definidos pelo consórcio uma vez que muitos dos estudos mais importantes e representativos utilizaram também outras terminologias (controladores do VIH, supressores de VIH e controladores de elite) por vezes com critérios ligeiramente mais alargados. Dada a falta de clarificação de critérios e ao mesmo tempo o valor incontornável de alguns artigos para este trabalho será forçosa a referência aos EC num sentido mais lato, que engloba as diferentes terminologias utilizadas. Esta tentativa de unificação tem como objectivo eliminar factores confundidores no texto mas não afectará a conformidade e significância dos factos relatados uma vez que só serão apresentadas conclusões validadas.

Epidemiologia dos Controladores de Elite

Nos estudos feitos até a data, não foi encontrada nenhuma diferença significativa entre modo de transmissão, sexo, raça ou localização geográfica que aumentasse a probabilidade de ser EC(3). São por isso demograficamente heterogéneos mas estão associados a algumas características genéticas e imunológicas expressivas as quais serão extensivamente analisadas.

Controladores de Elite como modelo de cura funcional

Até ao início de 2013, a única evidência de que a infecção por VIH é curável foi dada pelo caso do “Doente de Berlim” que, após receber o transplante de medula óssea de um dador com deficiência do receptor CCR5 (mutação $\Delta 32$), alcançou um nível de LT-CD4 normal e um nível de virémia indetectável (até a data) eliminando a necessidade de TARV (8). Este caso confirma a possibilidade da erradicação do vírus, ou seja, de *cura esterilizante*, da infecção. No entanto, o tratamento que levou à cura teve um contexto específico que obviamente não é exequível e não serve como tratamento geral. Este conceito de erradicação foi por isso repensado, tendo sido re-introduzido como *cura funcional*. Esta define-se como uma remissão a longo prazo da replicação viral e dos sintomas relacionados com o VIH na ausência de TARV(9).

O novo conceito de cura funcional teve ampla aceitação pela sua tangibilidade à luz do conhecimento actual e vários programas estão agora concentrados neste grande objectivo. Para tal, a opinião dos peritos na área é unânime. O estudo aprofundado dos mecanismos por detrás do controlo espontâneo e natural da replicação viral e da manutenção dos níveis de LT-CD4 é apontado como a chave para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas com vista à cura funcional da doença.

Mecanismos do Controlo de Elite

"These people (elite controllers) are showing us that there is some way to coexist with the virus. What we need to figure out is how the heck they are doing it."

Bruce Walker, investigador principal do The HIV Controllers Study

É o vírus?

Fitness replicativo viral

No início, foi colocada a hipótese que os EC seriam na verdade doentes infectados com um vírus defeituoso e por isso atenuado. A primeira evidência neste sentido foi descrita na *Sydney Blood Bank Cohort*, a famosa coorte australiana infectada com mutantes virais que tinham grandes deleções no gene nef e mantiveram contagens de LT-CD4 normais (10). Este achado motivou estudos subsequentes que sustentam a importância do gene nef na patogénese e indicam claramente que deleções no nef mas também mutações ou deleções noutros genes críticos (como o rev, gag-pol e vif) podem aumentar a probabilidade de ser EC(11).

No entanto, a infecção por vírus defeituosos não explica, de modo algum, todos os casos de controlo de elite. Blankson *et al* (12) comprovam a infecção por vírus totalmente competentes de alguns EC e as análises de genoma completo que efectuaram não identificaram mutações ou deleções associadas com o controlo.

A reforçar a ideia da competência viral, estão os estudos subsequentes de Blankson *et al* (13) que analisaram a transmissão do vírus de um indivíduo progressor para outro que se tornou EC. Embora no início estes resultados tenham sido atribuídos à redução do *fitness* viral forçada pelo sistema imunitário do progressor, Buckheit e a sua equipa (14) vieram confirmar definitivamente que as deficiências na replicação viral não eram a causa do controlo nestes casos. Os autores destes estudos concluem que as discrepâncias nos resultados clínicos da infecção pelo mesmo vírus provam que são os factores do hospedeiro que ditam o tipo de controlo viral que se estabelecerá.

Outro achado importante é que a presença dos alelos do antígeno leucocitário humano (HLA) B27 e B-57 está associada a produção rápida de mutações de escape aos LT-CD8 mas que este escape se dá a custo da perda de *fitness* replicativo (15, 16)

Assim, existe controvérsia quanto a questão de o *fitness* replicativo diminuído ser causado por infecção com um vírus defeituoso ou se a redução no *fitness* é devida as respostas imunitárias, nomeadamente dos LT-CD8 altamente eficazes e que induzem altas pressões selectivas. É provável que ambas as hipóteses sejam viáveis, ou seja, um determinado doente pode ser EC por ter sido infectado por um vírus defeituoso e um outro pode sê-lo por possuir LT-CD8 altamente eficazes contra o VIH como será referido adiante.

Reservatórios virais

Os eventos associados à primoinfecção são cruciais para as fases seguintes. Um dos eventos mais importantes desta fase é a disseminação precoce do vírus para o tecido linfoide associado à mucosa intestinal (GALT) que é fundamental para a perpetuação da infecção e estabelecimento da latência a qual é a principal barreira à erradicação do vírus.

Comprovou-se que os EC tem níveis significativamente menores de DNA proviral integrado do que os progressores (17). No entanto, apesar da transcrição de RNA viral (18) ser menor, na fase aguda, é suficiente para permitir a disseminação viral para os reservatórios latentes ainda que em baixas quantidades (19).

Comprovou-se também que existe replicação viral contínua nos EC mas ainda não foi possível identificar o compartimento onde ocorre (20). Um estudo recente eliminou os monócitos como reservatório importante (21).

Nos reservatórios, sobretudo no GALT, a pressão selectiva imposta pelas LT-CD8 VIH-específicas dos EC é muito alta resultando em desenvolvimento de mutações de escape. As mutações de escape com patogenicidade diminuída associadas a cargas virais muito baixas impedem a reentrada de novos vírus no reservatório e explicam a discrepância encontrada entre as sequências genéticas provirais e as plasmáticas (estas com mutações nos epítomos restritos ao HLA-B57) como relata o estudo realizado por O'Connell e colegas (20).

Parece então que nos EC é o equilíbrio estabelecido entre reservatórios virais, replicação e defesa imunitária do hospedeiro que permite o controlo (anexos-figura2).

É o hospedeiro?

São os genes?

Desde os anos 90 que se sabe que alguns alelos do HLA classe I e os polimorfismos do CCR5 são responsáveis por diferenças na progressão da doença. Aproximadamente 1 em cada 300 infectados é portador de um “trunfo” genético que lhe permite controlar a progressão da doença.

A homozigotia para deleção do alelo delta 32 do CCR5 confere protecção contra infecção por VIH e a heterozigotia atrasa substancialmente a progressão para SIDA.

Quanto ao HLA, Migueles *et al* (22) em 2000, foram os primeiros a demonstrar a grande representação do HLA-B57 nos EC comparados com a população geral e com os não controladores.

Vários estudos se seguiram e em 2006, um enorme grupo de cientistas de todo o mundo juntou-se e começou a recrutar doentes que controlam o VIH para um estudo conhecido como o *The International HIV Controllers Study* (7). A equipa comparou os genes de 1000 controladores com os de 2600 progressores e descobriu mais de 300 polimorfismos de nucleótido único significativos (SNP) no genoma do MHC (*do inglês-Major Histocompatibility Complex*) e nenhum fora deste. Concluíram que alelos específicos do HLA-B bem como um efeito independente do HLA-C estão implicados, provavelmente como factores major no controlo sustentado da infecção. Destes o HLA-B57, HLA-B27, e também HLA-B14 e HLA-B51 são os genes mais fortemente associados com a protecção e o controlo da produção de vírus sendo que os EC que geram os vírus mais atenuados são os que possuem o HLA-B57. Estes achados sugerem que a maior pressão selectiva induzida por estes alelos do HLA dão origem a variantes virais com capacidade replicativa diminuída, semelhantes aos induzidos durante o tratamento com TARV. No entanto, é de salientar nem todos EC possuem estes alelos, nem o HLA-B57 confere protecção total contra a evolução. Estes alelos serão por isso a chave na modulação do controlo mas não o fazem isoladamente sugerindo que será a interacção entre diferentes mecanismos que explica o controlo (9).

Qual o papel da imunidade inata no controlo de elite?

O facto da maioria dos EC não exibirem a típica manifestação sintomática da infecção primária e poderem ter controlo espontâneo desta, sugere que uma resposta precoce e eficaz é crítica para o controlo subsequente da infecção.

Enzimas APOBEC

Vários estudos focaram-se na potencial capacidade destas enzimas em inactivar o VIH. No entanto, Gandhi *et al* (23) provaram que estas são expressas em níveis normais nos EC. Além disso, o gene *vif*, cuja actividade é neutralizada pela APOBEC, estava intacto e podia ser facilmente cultivado em LT-CD4 dos EC em estudo. Estes achados sugerem que estas enzimas nem estão sobreexpressas nos EC nem inactivam totalmente a capacidade replicativa do vírus.

Receptores “toll-like” e células dendríticas plasmocitóides

Os receptores “toll-like” (TLR) estão envolvidos no reconhecimento inato de vários micróbios incluindo o VIH. Demonstrou-se que polimorfismos neste receptor influenciam os desfechos, mais especificamente, o TLR9 foi associado a infecção rapidamente progressiva(24). Um facto interessante, é que a endocitose do vírus activa as células dendríticas plasmocitoides via TLR e que estas existem em maiores quantidades em indivíduos com progressão lenta da doença. Os progressores têm níveis mais baixos de resposta da célula dendríticas plasmocitóides e necessitam da estimulação prévia do receptor TLR9 o que permite inferir que níveis altos de estimulação do TLR9 se correlacionam com progressão da doença(25).

Nos EC as contagens destas células estão preservadas bem como a capacidade de secreção de IFN- α e outras citocinas inflamatórias que contribuem para o controlo da replicação viral (25, 26).

Células Natural Killer

O papel das células natural killer (NK) na imunidade antiviral precoce foi já demonstrado em múltiplas infecções. Nos EC do VIH, evidências crescentes de estudos epidemiológicos e funcionais, são fortemente sugestivos da importância das NK. A reforçar convincentemente esta ideia estão os dados do *The HIV Controllers Study* que concluíram que a presença de combinações de NK e HLA específicas está fortemente implicada no controlo do VIH e no atraso da progressão da doença(7).

Efeito Protector da combinação entre os *killer immunoglobulin receptor* (KIR) e HLA nos EC

As combinações presentes nos EC resultam em fenótipos de actuação das NK marcados por uma funcionalidade aumentada que parece resistir a anergia de resposta à infecção viral que se observa nos progressores(27).

As células NK apresentam receptores KIR, também expressos em LT-CD8, que se ligam às moléculas HLA classe I e activam as NK para a destruição das células infectadas.

O *The HIV controllers study*(7) constatou que os receptores KIR dos alotipos específicos KIR3DS1 e KIRDL1 exibem respostas aumentadas na presença dos seus ligandos putativos, um efeito observado sobretudo na presença dos alelos HLA-B27/57/58 os quais estão expressivamente sobrerepresentados na população de EC.

O genótipo KIRDS1/HLA-B exhibe maior produção de IFN- γ , maior citotoxicidade e uma capacidade superior de suprimir a replicação viral.

Já o papel do receptor KIRDL1, que ao contrário do KIRDS1, é um receptor inibitório, é menos bem compreendido. Pensa-se que confere sinais inibitórios ou licenciadores fortes que regulam a proliferação de clones que são capazes de responder mais vigorosamente à infecção. Pensa-se também que estas células sejam mais sensíveis à subregulação do MHC mediada pelo nef do VIH e por isso são importantes no controlo viral (27).

No *The HIV controllers study*(7) e em estudos genéticos subsequentes(28), foi também identificado um novo polimorfismo de nucleótido único (SNP) protetor localizado no HLA-C. Dado que o HLA-C serve como ligante dominante de 2 domínios do KIR pensa-se que a expressão aumentada do HLA-C se reflita em NK mais competentes e mais agressivas.

Estas respostas permitem por isso o controlo precoce da infecção que será fundamental ao retardar e limitar a progressão da doença.

Diferenças fenotípicas nas células NK dos Controladores de Elite

A progressão da infecção VIH é associada com a redistribuição extensa dos subgrupos de NK (NK^{dim, bright, neg}). Normalmente, classificam-se as células NK de

acordo com a densidade do CD56 na sua superfície. No sangue periférico, 90% são NKCD56^{dim} as quais têm altas concentrações de perforinas e de KIR. Os outros 10% são NKCD56^{bright} que não têm KIR e são pouco citotóxicas mas secretam grandes quantidades de citocinas quando activadas. Finalmente, as CD56^{neg} acumulam-se durante infecções crónicas e exibem um fenótipo de exaustão (27, 29).

A infecção VIH aguda nos progressores é marcada por uma expansão rápida das CD56^{dim} e concomitante diminuição das CD56^{bright}. Já a Infecção crónica está associada à expansão das anérgicas CD56^{neg}, a custa dos primeiros 2 subgrupos(29).

Nos EC, Vieillard *et al.* (30) demonstraram que as respostas das NK não são comprometidas. As hipóteses equacionadas pela equipa para este achado são que, ou a persistente supressão do controlo viral resulta em preservação do fenótipo NK normal, ou as NK dos EC resistem às alterações induzidas pelo vírus. Curiosamente, a detecção de NK no sangue periférico dos EC é reduzida. Este facto pode reflectir que o sangue não é o melhor compartimento para encontrar células NK dado que a maioria da replicação viral se dá em tecidos como a mucosa gastrointestinal (31).

Citotoxicidade celular dependente de anticorpos- Ligação das imunidades adaptativa e inata no controlo

Além do seu papel antiviral directo, as NK estão também intimamente envolvidas no controlo e clearance das células infectadas ou malignas através da indução da citotoxicidade celular dependente de anticorpos (*ADCC-do inglês antibody-dependent cellular cytotoxicity*). Ao contrário dos anticorpos neutralizantes que são apenas detectados em fases crónicas da doença, os ADCC aparecem em fases agudas e estão relacionados com progressão mais lenta da doença (32). Os EC possuem consistentemente concentrações mais altas de ADCC sendo que apenas 40% dos progressores crónicos apresentam este tipo de anticorpos(33).

Compreender como estes anticorpos são induzidos e qual o seu mecanismo de acção pode vir a fornecer informação crítica para novas abordagens no design de vacinas que sejam capazes de estimular a ADCC provocando reversamente a multiplicação de clones NK altamente específicos para a eliminação de células infectadas ou até mesmo do próprio vírus.

Qual o papel do tecido linfoide associado às mucosas?

Os tecidos mucosos dos tractos reprodutivo e gastrointestinal são as principais portas de entrada para o VIH. O GALT (do inglês- *gut associated lymphoid tissue*) representa o alvo major para a infecção, devido a alta densidade de LT-CD4, a maioria das quais expressa os coreceptores CCR5 e CXCR4. Nas primeiras semanas após a infecção nos progressores, a perda de LT-CD4 da lâmina própria é rápida e profunda com perda de integridade epitelial resultando em facilitação da translocação microbiana. A translocação microbiana, activa os receptores “toll-like” (TLR) das células do sistema imunitário e esta activação está implicada como causa provável da activação imunitária generalizada que é o marco da infecção crónica por VIH (34).

Sinergia dos LT-CD8 e dos LT-CD4 na resposta à infecção:

Os linfócitos T-CD8 rectais expressam menos perforinas que os plasmáticos mas estão presentes em números elevados na mucosa rectal. Foi descrita uma correlação positiva entre a magnitude da resposta ao gag e a polifuncionalidade (produção de 3 ou mais moléculas como por exemplo IFN γ , IL-2, MIP1- β , TNF α) dos LT-CD8 da mucosa rectal e a contagem de LT-CD4 e uma correlação inversa entre estes últimos e a carga viral plasmática(35). No mesmo estudo, os indivíduos com as contagens de LT-CD4 mais elevadas tinham as cargas virais plasmáticas mais baixas e as respostas mais fortes e polifuncionais dos LT-CD8 rectais. Subsequentemente, Ferre *et al.* (36) analisaram as respostas das células T CD8 através de amostras emparelhadas de sangue e mucosa rectal. Observaram que as respostas dos LT-CD8 da mucosa dos controladores do VIH eram significativamente mais robustas e polifuncionais que as dos não controladores e dos doentes sob TARV o que pode explicar a preservação significativa das LT-CD4 da mucosa rectal dos EC embora em todos os grupos de infectados a percentagem de LT-CD4 fosse significativamente menor que nos seronegativos.

Estes achados sugerem que os LT-CD4 suportam o desenvolvimento e manutenção da resposta robusta dos LT-CD8 enquanto estes erradicam células infectadas limitando a infecção *de novo* dos LT-CD4, ou seja, existe uma acção sinérgica que limita a produção viral e preserva frequências relativamente altas de LT-CD4 nos tecidos mucosos dos controladores do VIH.

Expressão génica:

Loke *et al.* (37) estudaram a expressão génica no sangue e em biópsias rectosigmoideias de 9 controladores e 11 progressores. Constataram que a capacidade dos LT-CD4 da mucosa produzirem múltiplas citocinas está fortemente associada à contagens de LT-CD4 periféricas altas e ao status de controlador. Verificou-se uma forte correlação entre a expressão de marcadores de activação imunitária no sangue e na mucosa rectal. Os autores põem a hipótese de que a activação imunitária da mucosa possa ser inferida pela análise da activação no sangue quando as biópsias da mucosa não estão disponíveis.

Interacção vírus- HLA

Um outro estudo de Ferre *et al* (38) verificou que, entre os controladores, as respostas aos epítomos restritos HLA-B27 e HLA-B57 dos LT-CD8 e LT-CD4 da mucosa tinha magnitudes consistentemente maiores do que aos outros epítomos. Parece também existir uma resposta preferencial das células da mucosa a locais restritos da proteína Gag o que permite inferir que o número total de epítomos reconhecidos não será tão importante como almejar as sequências virais conservadas específicas pressionando o aparecimento de mutações de escape que terão alto custo no *fitness* replicativo(34).

No seu todo estas observações suportam o conceito “no sítio certo à hora certa”, ou seja, a magnitude e a qualidade da resposta VIH-específica das células da mucosa gastrointestinal durante a infecção crónica podem ser um componente major do controlo e correlacionam-se com o status de controlador(34).

Qual o papel da imunidade humoral?

Pensa-se que os anticorpos neutralizantes (*Nab- do inglês neutralizing antibodies*) funcionem por ligação às proteínas do env que impediria a entrada do vírus. Na infecção por VIH este passo é crucial, uma vez que após a entrada na célula, a forma latente do vírus torna a erradicação do vírus actualmente impossível. O interesse nestes anticorpos foi grande uma vez que, na teoria, seriam ideais para o desenvolvimento de uma vacina. No entanto, os resultados de vários estudos foram desencorajadores. Em 2008, *Pereyra et al.* (39) comparou a proporção de Nab em doentes EC, doentes com baixos níveis de virémia e progressores e descobriram que os EC tinham títulos significativamente mais baixos de Nab. No ano seguinte, um outro estudo (40) demonstrou que apenas 25% dos EC tinham Nab de largo espectro de actividade contra 41% dos doentes com baixos níveis de virémia e 42% dos progressores. Assim, com base na evidência os Nab não explicam o controlo da infecção nos EC e dificilmente poderão ser utilizados como arma terapêutica.

Qual o papel dos linfócitos T-CD4?

Os linfócitos T auxiliares, definidos fenotipicamente pela presença de CD4, tem uma importante função reguladora das respostas humoral e citotóxica sendo cruciais na modulação da resposta que impede a inflamação crónica bem como na mobilização dos LT-CD8 para as mucosas(41). Os CD4 são os alvos primários do VIH e o seu declínio está directamente relacionado com a progressão para SIDA. Nos EC isto não acontece e vários estudos têm vindo a fornecer explicações para este fenómeno tendo-se já chegado a algumas conclusões.

Na grande maioria dos EC, o controlo espontâneo da infecção está associado a níveis mais altos de CD4 (media de 750cels/ml) que nos progressores e nos tratados com TARV e apenas ligeiramente mais baixos que nos não infectados (5, 42, 43). O controlo dos níveis de LT-CD4 foi recentemente atribuído a preservação das funções do timo e de alguns tecidos linfoides extra-tímicos (42).

Susceptibilidade à infecção diminuída

Alguns estudos sugeriram que a manutenção dos níveis de CD4 se deveria à resistência à entrada do VIH. Chen *et al* (44) propuseram que as LT-CD4 dos EC fossem resistentes à infecção pela regulação positiva selectiva da proteína p21 que actua como barreira contra a infecção por VIH nos EC através da inibição da cinase ciclino-dependente 9 (CDK9) necessária para a replicação eficaz do vírus. Saez-Cirion *et al* (45) relatam resistência à infecção mas concluem que o p21 teria uma acção indirecta, ou mesmo nenhuma acção. Vários outros estudos confirmam os LT-CD4 dos EC suportam a infecção e a replicação viral como os LT-CD4 dos progressores.(12, 46, 47) e existem casos relatados de transmissão de vírus de progressores crónicos para pessoas que se tornaram controladoras do vírus (13).

Assim, as evidências sugerem que o controlo da infecção na maioria dos EC não é um produto da resistência das LT-CD4 nem da capacidade de replicação viral diminuída.

Activação das LT-CD4

A opinião actual é que a progressão da doença se deve a perda de funções das LT-CD4, sobretudo da secreção de IL-2, e não a uma delecção física destas células ou a factores que inibem a proliferação(48). As LT-CD4 são normalmente detectadas na grande maioria dos infectados mas a magnitude da resposta é tipicamente baixa

sobretudo quanto comparada com as magnitudes de resposta dos LT-CD8 dos mesmo doentes(49).

Outro facto surpreendente é que os EC tem os níveis mais baixos de activação imune de todos os infectados embora mais altos que os não infectados (50, 51). Esta constatação fomentou a pesquisa pelas características únicas que marcariam a diferença na progressão tendo-se descoberto que as respostas HIV-específicas dos LT-CD4 dos EC são mais fortes, polifuncionais e com potenciais proliferativos mais elevados(39, 52, 53). Estas traduzem-se na expressão aumentada de IL-2 e IFN- γ contra a proteína gag viral (51). Segundo Vingert *et al* (54) a capacidade de reconhecer quantidades mínimas dos péptidos do gag293-312 imunodominante resulta da alta avidéz entre a interacção TLR/MHC nos EC. Esta capacidade das LT-CD4 responderem a quantidades mínimas de antígeno pode ser crucial ao manter o sistema imunitário em constante alerta e ao permitir a indução de respostas rápidas e de grande magnitude.

A evidência de que a TARV, cujo principal efeito é baixar dramaticamente as cargas virais, pode restaurar parcialmente as respostas VIH-específicas suscitou a hipótese de que as diferenças fenotípicas, na capacidade proliferativa e na secreção de IL-2, poderiam ser a consequência, e não a causa, das baixas cargas virais(48). Independentemente desta questão, pode afirmar-se que a manutenção de altos níveis de LT-CD4, de IL-2 e IFN- γ são indicativos de uma resposta Th1 de memória mais robusta a qual é crucial na rapidez de actuação e eficácia anti-viral das LT-CD8 (53).

Exaustão Clonal

As dificuldades na *clearance* de patogéneos durante as infecções crónicas são devidas, não só a já referida perda de funções das células T contra os antígenos, mas também a exaustão imunitária, causada pelo dano progressivo à maquinaria celular e pela activação constante. A supressão é mediada por vias regulatórias negativas que, em condições fisiológicas, desempenham um importante papel ao manter a tolerância periférica e evitando a activação imunitária excessiva.

A exaustão de LT-CD4 é um processo gradual, com algumas funções perdidas precocemente (capacidade proliferativa e produção de IL-2) enquanto outras, como a produção de IFN- γ , são perdidas em fases avançadas de disfunção (55).

O papel da exaustão clonal das LT-CD4 VIH-específicas e o facto de este fenómeno não acontecer nos EC, foi já objecto de numerosos estudos. Dos achados, destaca-se como mais relevante a acção das moléculas inibitórias PD-1 e CTLA-4. Ambas são membros da família CD28 e contribuem para a paragem do ciclo celular e término da activação de células T que ocorre após a interacção entre TCR e MHC.

A molécula PD-1 (*do inglês programmed death-1*) foi intensivamente estudada na disfunção dos LT-CD8, no entanto, sabe-se menos sobre o seu papel imunoregulatório na exaustão das LT-CD4. Um estudo realizado por D'Souza *et al* (56) revelou que a PD-1 está sobrerregulada nos LT-CD4 VIH-específicos e o nível de expressão de relaciona com a virémia. A equipa experimentou bloquear o PD-1 tendo constatado que existia um aumento da proliferação de LT-CD4 VIH-específicos, embora com variabilidade significativa nas pequenas coortes investigadas.

A molécula CTLA-4 (*do inglês Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4*) foi também alvo de intenso estudo. Kauffman *et al* (57) revelaram que existe uma sobrerregulação desta molécula nos progressores e nos doentes tratados com TARV mas não nos EC. Descobriram também que o seu bloqueio também melhorava significativamente as respostas proliferativas dos LT-CD4 VIH-específicos sugerindo que este mecanismo poderia explicar parcialmente as respostas proliferativas superiores no EC. Curiosamente, neste estudo constatou-se que os EC com cargas virais <0,2 cópias/ml estavam associados a níveis significativamente mais baixos de activação da CTLA-4 do que os EC com cargas entre as 5 e 46 cópias/ml sugerindo que o nível de replicação viral, mesmo quando muito baixa, está directamente relacionado com a expressão de CTLA-4.

Outro receptor regulatório, o TIM-3 (*do inglês T-cell Ig and mucin-containing domain-3*) foi também identificado e constatou-se que a co-expressão de CTLA-4, PD-1 e TIM-3 estava mais fortemente relacionada com a carga viral do que a expressão de qualquer um isoladamente.(55)

Linfócitos T reguladores

São um subgrupo de LT-CD4 que expressa CD25 e o factor de transcrição FOXP3 e estão envolvidas na modulação da resposta imunitária mantendo a tolerância aos auto-antígenos através da produção de TGF- β , IL-10 e IL-35. São essenciais na manutenção do equilíbrio do sistema imunitário pois limitam a activação de defesas no

hospedeiro, prevenindo a sua exaustão precoce. Por outro lado, esta supressão pode facilitar a proliferação e por isso o seu papel no controlo de elite ainda não está totalmente esclarecido.

Resultados conflituosos quanto aos níveis de LTreguladores dos EC em comparação com os restantes grupo foram reportados por vários grupos. Por exemplo, Brandt *et al*(58) relatam níveis de LTreguladores inferiores nos EC que nos progressores e indivíduos em TARV enquanto o grupo de Owen(51) relata níveis mais altos de LTreguladores nos EC.

Actualmente os investigadores acreditam que seja o balanço entre as respostas protectoras exuberantes das células T contra o VIH e actividade das LTreguladoras na minimização da activação imunitária não específica, que permitem que nos EC haja uma resposta eficaz contra o vírus sem exaustão(26).

Linfócitos Th17

Assim denominados por serem linfócitos T auxiliares produtores de IL-17. Actuam contrabalançando a actividade inibitória/tolerante das LTreguladoras contribuindo para a inflamação bem como para a perpetuação das doenças auto-imunes. A importância dos LTh17 na imunodeficiência foi primeiramente estudada em macacos infectados por SIV (*do inglês – simian immunodeficiency vírus*) e constatou-se que a depleção de LTh17 e o desequilíbrio do ratio com os LTreguladores estava associado a progressão para a doença(59). Posteriormente estes achados foram confirmados por Li *et al* (60) nos humanos. A equipa concluiu ainda que os EC mantinham níveis de LTh17 e LTregs bem como do ratio LTh17/LTregs semelhantes aos dos indivíduos não infectados.

Assim, os baixos níveis de activação imune mas com respostas específicas mais polifuncionais, robustas e eficazes, a menor actividade de moléculas pró-exaustão clonal e a menor expressão de marcadores de progressão da doença são até a data os dados mais convincentes sobre a actuação dos linfócitos T-CD4 no controlo do VIH.

Qual o papel dos linfócitos T-CD8?

Os linfócitos T definidos fenotipicamente pela expressão de CD8, (LT-CD8) são células citotóxicas encarregues de encontrar e matar células infectadas por patógenos como por exemplo o VIH. O seu papel no controlo de elite foi já extensivamente analisado e os investigadores não tem dúvidas de que estas células são provavelmente a chave do controlo de elite.

HLA e LT-CD8 nos EC

Como já foi referido para as células NK, também aqui o HLA B57 e em menor grau o B27 condicionam aspectos importantes e múltiplos estudos genéticos supracitados provam que estão sobrerrepresentados nos EC.

A apresentação de peptídeos virais aos LT-CD8 VIH-específicos pelos alelos HLA-B27 e HLA-B57 é crucial levando a uma resposta imunitária eficaz mesmo com baixas concentrações de péptidos (maior avidéz)(61).

A presença dos alelos HLA protectores relaciona-se com respostas LT-CD8 específicas para o gag viral mais eficazes que diminuem o *fitness* replicativo, ou seja, na presença destes alelos HLA a pressão selectiva é maior e leva a emergência de mutações virais compensatórias que escapam temporariamente aos LT-CD8 mas cujo *fitness* é menor. O predomínio destas respostas LT-CD8 contra o Gag é comum nos EC (36, 39, 52, 62) e a sua presença correlacionou-se com a habilidade de suprimir a replicação (62).

Características qualitativas

A eficácia dos LT-CD8 não parece relacionar-se com a quantidade de células que respondem, uma vez que também os progressores apresentam altos níveis de LT-CD8 (63). Parece então que a qualidade será a razão da diferença. A resposta polifuncional dos LT-CD8 à estimulação pelo VIH, além da actividade citolítica, é caracterizada pela libertação de múltiplas citocinas incluindo IFN- γ , TNF- α , IL-2, CD107a e MIP1 β em várias combinações na resposta à primoinfecção. Esta resposta inicial é transversal a todos os doentes mas, enquanto os progressores a perdem posteriormente, os EC mantêm-nas o que é obviamente vital no controlo eficaz. A polifuncionalidade é mantida tanto no sangue periférico como nas mucosas como observado por Ferre *et al* (36).

Apesar de tipicamente, os níveis de LT-CD8 polifuncionais estarem inversamente relacionados com a carga viral nos doentes em TARV tal não acontece(64). As suas cargas virais estão farmacologicamente suprimidas mas os LT-CD8 não apresentam a polifuncionalidade demonstrada pelos EC. Isto sugere que não são as cargas virais baixas que permitem a indução de respostas citotóxicas polifuncionais mas antes que as características intrínsecas dos LT-CD8 dos EC é que são mais eficazes em manter controlada a virémia(65).

A qualidade lítica dos grânulos nos LT-CD8 dos EC torna-os mais rápidos e eficientes que os progressores na eliminação das LT-CD4 infectadas pelo VIH pela via da granulocitose-exocitose sobretudo através do aumento do conteúdo em perforinas e granzimas-B. Este mecanismo aparenta ser crítico no controlo (66).

Células T de memória centrais

Uma proporção considerável dos EC não apresenta imunidade celular intensa, a qual pode ser quase indetectável em condições basais. Esta observação levantou a hipótese de que, se situações de extinção sustentada da virémia são acompanhadas por baixos níveis de LT-CD8 citolíticos, poderá haver outros participantes envolvidos na vigilância activa da replicação.

Ndhvolu *et al.*(67) em 2012 investigaram o papel das células T de memória centrais no controlo e vigilância da infecção. O estudo realizado pela equipa confirmou que os EC com baixos níveis basais de activação imunitária, respondiam à estimulação com um número de células muito maior e mais rapidamente que os progressores. Alguns dos LT-CD8 dos EC exibiam um fenótipo de memória central, o que permitiu a inferência de que a resposta célere se deve à presença de células centrais de memória que permitem expansão rápida quando estimuladas com os péptidos do gag. Os autores concluem que o verdadeiro alcance e importância das células T centrais de memória deve ser aprofundado uma vez que parecem ter um papel fundamental no controlo da replicação sobretudo a longo prazo, podendo vir a ser a base do design de novas vacinas.

Quadro-Resumo

	Progressores	Controladores de Elite
Características	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Set point</i> viral mediano: 30,000cópias/ml • Declínio progressivo de LT-CD4 • Altos níveis de activação imunitária e translocação microbiana 	<ul style="list-style-type: none"> • Cargas virais <50 cópias/ml • Declínio mínimo de LT-CD4 • Níveis menores de activação imunitária e translocação microbiana
Genes	<ul style="list-style-type: none"> • Sem sobrerepresentação significativa de nenhum alelo 	<ul style="list-style-type: none"> • Sobrerepresentação de alelos HLA-B (sobretudo HLA-B57 e HLA-B27)
Vírus	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Fitness</i> replicativo mantido com geração de mutações de escape agressivas • Altas taxas de translocação e células latentes infectadas 	<ul style="list-style-type: none"> • Alta pressão selectiva imposta gera mutações virais de escape menos patogénicas • Menor translocação para os reservatório, menor numero de células latentes infectadas
Células NK	<ul style="list-style-type: none"> • Anergia na resposta; • Fenótipo de exaustão na fase crónica NKCD56^{neg} 	<ul style="list-style-type: none"> • Relação entre KIR e HLA-B comprovada. • Preservado fenótipo NK com alta actividade citolítica (NKCD56^{dim, bright})
Células Dendríticas	<ul style="list-style-type: none"> • Níveis baixos de resposta. Necessitam de estimulação prévia do TLR-9 	<ul style="list-style-type: none"> • Níveis mais altos de respostas com contagens celulares e secreção de IFN-α preservadas
Anticorpos Neutralizantes	<ul style="list-style-type: none"> • Títulos baixos a moderados 	<ul style="list-style-type: none"> • Títulos baixos
GALT	<ul style="list-style-type: none"> • Perda de LT-CD4 da mucosa rápida e profunda, facilitação da translocação microbiana e activação imunitária generalizada que contribui para o fenótipo de exaustão 	<ul style="list-style-type: none"> • Concentrações elevadas de LT-CD4 e LT-CD8. Sinergia no controlo da infecção permite manter frequências. • Presença do HLA-B57 e HLA-B27 associado a respostas mais eficazes
Resposta LT-CD4	<ul style="list-style-type: none"> • Produção de IL-2 diminui • Exaustão clonal • Deplecção de LTregs no sangue e acumulação no tecido linfoide 	<ul style="list-style-type: none"> • Respostas mais polifuncionais e sustentadas • Menor activação • Exaustão clonal mínima • Manutenção dos níveis de LTregs
Reposta LT-CD8	<ul style="list-style-type: none"> • Resposta mono ou bi-funcional • Resposta proliferativa baixa • Efeito fraco na supressão da replicação • Qualidade lítica menor 	<ul style="list-style-type: none"> • Respostas polifuncionais fortes VIH-específicas contra o gag sobretudo se HLA-B57 ou HLA-B27 • Activação imunitária baixa mas com resposta proliferativa intensa • Alta eficácia na supressão da replicação • Qualidade lítica alta (granzima-B, perforinas, IFN-γ, MIP-1β...) • Presença de células T centrais de memória

Conclusão

A progressão inexorável da infecção por VIH para a morte, aliada ao número crescente de infectados e às limitações do tratamento crónico fomentou milhares de investigações no sentido de compreender os mecanismos patológicos e descobrir novos caminhos terapêuticos. A existência de indivíduos capazes de controlar naturalmente a infecção representa uma oportunidade única para explorar quais os recursos do sistema imunitário que permitem tal controlo e quais serão críticos.

Os controladores de elite são um grupo de infectados pelo VIH, demograficamente heterogéneo, mas definido pela notável capacidade de manter a virémia plasmática em níveis indetectáveis. Este controlo espontâneo da virémia pode advir em alguns casos da infecção por vírus defeituosos. Porém, múltiplos estudos provaram que na maioria das situações os EC são infectados por vírus patogénicos. Nestes, o controlo é efectivamente devido ao sistema imunitário do hospedeiro sendo estes os indivíduos cujas notáveis capacidades têm sido investigadas.

A relação do HLA-B com o controlo é inegável. O HLA-B57 e HLA-B27 foram já associados em numerosos estudos a respostas das NK e dos LTCD8 mais fortes e eficazes. No entanto, nem todos os doentes são portadores deste trunfo genético indicando que não é condição obrigatória, e provavelmente também não será suficiente, para o controlo.

O facto da maioria dos EC não exibirem a típica manifestação sintomática da primoinfecção e poderem ter controlo espontâneo desta, sugere que a resposta precoce e eficaz dos EC é crítica para o controlo subsequente da infecção. A importância do GALT no controlo tem vindo a ser cada vez mais reconhecida sobretudo devido às implicações dos reservatórios virais na perpetuação da infecção. O facto de os EC, tanto em fase aguda como crónica de infecção, possuírem níveis muito inferiores de células latentes infectadas e uma translocação viral menor parece ser crítico no controlo crónico e indica a importância de intervir cedo impedindo a formação de grandes reservatórios de células latentes.

Os LT-CD4 são os grandes protagonistas na progressão da infecção e desenvolvimento de SIDA. No entanto, se por um lado é o seu declínio que dá origem às consequências clínicas da infecção, o seu papel como alvo que é infectado e destruído pelos LT-CD8 tem vindo a ser posto em causa. Evidências crescentes

apontam para um papel activo das LT-CD4 no controlo da infecção. Os baixos níveis de activação imune mas com respostas específicas mais polifuncionais, robustas e eficazes, a menor actividade de moléculas pró-exaustão clonal e a menor expressão de marcadores de progressão da doença são até a data os dados mais convincentes sobre a actuação dos linfócitos T-CD4 no controlo do VIH.

A importância dos LT-CD8 no controlo viral surgiu cedo no estudo dos EC e o volume de evidência não parou de crescer. Os LT-CD8 dos EC apresentam respostas rápidas, polifuncionais e altamente eficazes que parecem ser críticas na eliminação de células infectadas e no controlo a longo prazo da replicação viral. A descoberta recente do fenótipo de células T centrais de memória resolve a questão de como é que os EC, caracteristicamente com baixos níveis de activação imunitária, respondiam tão rápido, robusta e eficazmente a estimulações mínimas com antígeno aproximando-os ainda mais do conceito de cura funcional. Os LT-CD8 são assim a chave do controlo e todos os esforços para o desenvolvimento de uma vacina passam actualmente por eles.

É hoje incontornável a importância de criar alternativas viáveis à TARV, nomeadamente uma vacina. Para isso tem sido fundamental o estudo dos mecanismos do controlo de elite uma vez que estes representam na actualidade o melhor exemplo de controlo da replicação e de uma resposta imunitária vigorosa e eficaz contra o VIH. Estes doentes não poderão orientar o design de uma vacina preventiva, visto que não tem anticorpos neutralizantes altamente eficazes, mas serão modelos para uma vacina terapêutica, que não previne a infecção nem a erradica mas inibe a replicação viral e mantém o controlo imunitário, ou seja, permite uma cura funcional.

Os estudos realizados até à data não tiveram sucesso em identificar uma característica comum em todos os controladores de elite. A investigação actual aponta para a existência de múltiplas variáveis envolvidas as quais dependem de factores virais, genéticos, imunitários e antivirais intrínsecos. Parece ser a interacção entre estes diferentes factores que estabelece o controlo de elite.

Assim, as descobertas já realizadas são suficientes para se compreender em definitivo o potencial dos controladores de elite mas a investigação sobre os mecanismos do controlo terá que continuar. Esta será fundamental para aumentar o conhecimento sobre a patogénese do VIH, criar estratégias de controlo da progressão da doença e sobretudo descobrir se existe uma característica chave nos EC que possa ser reproduzida de modo a desenvolver uma cura funcional para a infecção por VIH.

Bibliografia

1. Organization WH. Global summary of the HIV/AIDS epidemic december 2011 [cited 2013 10/01/2013].
2. Johnston MI, Fauci AS. An HIV vaccine--challenges and prospects. *The New England journal of medicine*. 2008 Aug 28;359(9):888-90. PubMed PMID: 18753644.
3. Okulicz JF, Lambotte O. Epidemiology and clinical characteristics of elite controllers. *Current opinion in HIV and AIDS*. 2011 May;6(3):163-8. PubMed PMID: 21502920.
4. Lobritz MA, Lassen KG, Arts EJ. HIV-1 replicative fitness in elite controllers. *Current opinion in HIV and AIDS*. 2011 May;6(3):214-20. PubMed PMID: 21430530.
5. Okulicz JF, Marconi VC, Landrum ML, Wegner S, Weintrob A, Ganesan A, et al. Clinical outcomes of elite controllers, viremic controllers, and long-term nonprogressors in the US Department of Defense HIV natural history study. *The Journal of infectious diseases*. 2009 Dec 1;200(11):1714-23. PubMed PMID: 19852669.
6. Grabar S, Selinger-Leneman H, Abgrall S, Pialoux G, Weiss L, Costagliola D. Prevalence and comparative characteristics of long-term nonprogressors and HIV controller patients in the French Hospital Database on HIV. *Aids*. 2009 Jun 1;23(9):1163-9. PubMed PMID: 19444075.
7. International HIVCS, Pereyra F, Jia X, McLaren PJ, Telenti A, de Bakker PI, et al. The major genetic determinants of HIV-1 control affect HLA class I peptide presentation. *Science*. 2010 Dec 10;330(6010):1551-7. PubMed PMID: 21051598. Pubmed Central PMCID: 3235490.
8. Hutter G, Nowak D, Mossner M, Ganepola S, Mussig A, Allers K, et al. Long-term control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 stem-cell transplantation. *The New England journal of medicine*. 2009 Feb 12;360(7):692-8. PubMed PMID: 19213682.
9. Autran B, Descours B, Avettand-Fenoel V, Rouzioux C. Elite controllers as a model of functional cure. *Current opinion in HIV and AIDS*. 2011 May;6(3):181-7. PubMed PMID: 21460722.
10. Zaunders J, Dyer WB, Churchill M. The Sydney Blood Bank Cohort: implications for viral fitness as a cause of elite control. *Current opinion in HIV and AIDS*. 2011 May;6(3):151-6. PubMed PMID: 21378562.
11. Buckheit RW, 3rd, Salgado M, Martins KO, Blankson JN. The implications of viral reservoirs on the elite control of HIV-1 infection. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. 2013 Mar;70(6):1009-19. PubMed PMID: 22864624.
12. Blankson JN, Bailey JR, Thayil S, Yang HC, Lassen K, Lai J, et al. Isolation and characterization of replication-competent human immunodeficiency virus type 1 from a subset of elite suppressors. *Journal of virology*. 2007 Mar;81(5):2508-18. PubMed PMID: 17151109. Pubmed Central PMCID: 1865922.
13. Bailey JR, O'Connell K, Yang HC, Han Y, Xu J, Jilek B, et al. Transmission of human immunodeficiency virus type 1 from a patient who developed AIDS to an elite suppressor. *Journal of virology*. 2008 Aug;82(15):7395-410. PubMed PMID: 18495769. Pubmed Central PMCID: 2493308.
14. Buckheit RW, 3rd, Allen TG, Alme A, Salgado M, O'Connell KA, Huculak S, et al. Host factors dictate control of viral replication in two HIV-1 controller/chronic progressor transmission pairs. *Nature communications*. 2012;3:716. PubMed PMID: 22395607. Pubmed Central PMCID: 3549550.
15. Miura T, Brockman MA, Brumme ZL, Brumme CJ, Pereyra F, Trocha A, et al. HLA-associated alterations in replication capacity of chimeric NL4-3 viruses carrying gag-protease from elite controllers of human immunodeficiency virus type 1. *Journal of virology*. 2009 Jan;83(1):140-9. PubMed PMID: 18971283. Pubmed Central PMCID: 2612337.

16. Lassen KG, Lobritz MA, Bailey JR, Johnston S, Nguyen S, Lee B, et al. Elite suppressor-derived HIV-1 envelope glycoproteins exhibit reduced entry efficiency and kinetics. *PLoS pathogens*. 2009 Apr;5(4):e1000377. PubMed PMID: 19360131. Pubmed Central PMCID: 2661022.
17. Graf EH, Mexas AM, Yu JJ, Shaheen F, Liszewski MK, Di Mascio M, et al. Elite suppressors harbor low levels of integrated HIV DNA and high levels of 2-LTR circular HIV DNA compared to HIV+ patients on and off HAART. *PLoS pathogens*. 2011 Feb;7(2):e1001300. PubMed PMID: 21383972. Pubmed Central PMCID: 3044690.
18. Hatano H, Delwart EL, Norris PJ, Lee TH, Dunn-Williams J, Hunt PW, et al. Evidence for persistent low-level viremia in individuals who control human immunodeficiency virus in the absence of antiretroviral therapy. *Journal of virology*. 2009 Jan;83(1):329-35. PubMed PMID: 18945778. Pubmed Central PMCID: 2612329.
19. Goujard C, Chaix ML, Lambotte O, Deveau C, Sinet M, Guernon J, et al. Spontaneous control of viral replication during primary HIV infection: when is "HIV controller" status established? *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2009 Sep 15;49(6):982-6. PubMed PMID: 19681706.
20. O'Connell KA, Brennan TP, Bailey JR, Ray SC, Siliciano RF, Blankson JN. Control of HIV-1 in elite suppressors despite ongoing replication and evolution in plasma virus. *Journal of virology*. 2010 Jul;84(14):7018-28. PubMed PMID: 20444904. Pubmed Central PMCID: 2898225.
21. Spivak AM, Salgado M, Rabi SA, O'Connell KA, Blankson JN. Circulating monocytes are not a major reservoir of HIV-1 in elite suppressors. *Journal of virology*. 2011 Oct;85(19):10399-403. PubMed PMID: 21795348. Pubmed Central PMCID: 3196433.
22. Migueles SA, Sabbaghian MS, Shupert WL, Bettinotti MP, Marincola FM, Martino L, et al. HLA B*5701 is highly associated with restriction of virus replication in a subgroup of HIV-infected long term nonprogressors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2000 Mar 14;97(6):2709-14. PubMed PMID: 10694578. Pubmed Central PMCID: 15994.
23. Gandhi SK, Siliciano JD, Bailey JR, Siliciano RF, Blankson JN. Role of APOBEC3G/F-mediated hypermutation in the control of human immunodeficiency virus type 1 in elite suppressors. *Journal of virology*. 2008 Mar;82(6):3125-30. PubMed PMID: 18077705. Pubmed Central PMCID: 2259015.
24. Bochud PY, Hersberger M, Taffe P, Bochud M, Stein CM, Rodrigues SD, et al. Polymorphisms in Toll-like receptor 9 influence the clinical course of HIV-1 infection. *Aids*. 2007 Feb 19;21(4):441-6. PubMed PMID: 17301562.
25. Machmach K, Leal M, Gras C, Viciano P, Genebat M, Franco E, et al. Plasmacytoid dendritic cells reduce HIV production in elite controllers. *Journal of virology*. 2012 Apr;86(8):4245-52. PubMed PMID: 22318133. Pubmed Central PMCID: 3318617.
26. Blankson JN. Effector mechanisms in HIV-1 infected elite controllers: highly active immune responses? *Antiviral research*. 2010 Jan;85(1):295-302. PubMed PMID: 19733595. Pubmed Central PMCID: 2814919.
27. Berger CT, Alter G. Natural killer cells in spontaneous control of HIV infection. *Current opinion in HIV and AIDS*. 2011 May;6(3):208-13. PubMed PMID: 21399495.
28. Thomas R, Apps R, Qi Y, Gao X, Male V, O'Huigin C, et al. HLA-C cell surface expression and control of HIV/AIDS correlate with a variant upstream of HLA-C. *Nature genetics*. 2009 Dec;41(12):1290-4. PubMed PMID: 19935663. Pubmed Central PMCID: 2887091.
29. Bjorkstrom NK, Ljunggren HG, Sandberg JK. CD56 negative NK cells: origin, function, and role in chronic viral disease. *Trends in immunology*. 2010 Nov;31(11):401-6. PubMed PMID: 20829113.
30. Vieillard V, Fausther-Bovendo H, Samri A, Debre P, French Asymptotiques a Long Terme A-COSG. Specific phenotypic and functional features of natural killer cells

from HIV-infected long-term nonprogressors and HIV controllers. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 2010 Apr;53(5):564-73. PubMed PMID: 20147841.

31. Brechley JM, Douek DC. HIV infection and the gastrointestinal immune system. *Mucosal immunology*. 2008 Jan;1(1):23-30. PubMed PMID: 19079157. Pubmed Central PMCID: 2777614.

32. Forthal DN, Moog C. Fc receptor-mediated antiviral antibodies. *Current opinion in HIV and AIDS*. 2009 Sep;4(5):388-93. PubMed PMID: 20048702. Pubmed Central PMCID: 2882066.

33. Lambotte O, Ferrari G, Moog C, Yates NL, Liao HX, Parks RJ, et al. Heterogeneous neutralizing antibody and antibody-dependent cell cytotoxicity responses in HIV-1 elite controllers. *Aids*. 2009 May 15;23(8):897-906. PubMed PMID: 19414990.

34. Shacklett BL, Ferre AL. Mucosal immunity in HIV controllers: the right place at the right time. *Current opinion in HIV and AIDS*. 2011 May;6(3):202-7. PubMed PMID: 21399497. Pubmed Central PMCID: 3245199.

35. Crichtfield JW, Young DH, Hayes TL, Braun JV, Garcia JC, Pollard RB, et al. Magnitude and complexity of rectal mucosa HIV-1-specific CD8+ T-cell responses during chronic infection reflect clinical status. *PLoS One*. 2008;3(10):e3577. PubMed PMID: 18974782. Pubmed Central PMCID: 2570490.

36. Ferre AL, Hunt PW, Crichtfield JW, Young DH, Morris MM, Garcia JC, et al. Mucosal immune responses to HIV-1 in elite controllers: a potential correlate of immune control. *Blood*. 2009 Apr 23;113(17):3978-89. PubMed PMID: 19109229. Pubmed Central PMCID: 2673124.

37. Loke P, Favre D, Hunt PW, Leung JM, Kanwar B, Martin JN, et al. Correlating cellular and molecular signatures of mucosal immunity that distinguish HIV controllers from noncontrollers. *Blood*. 2010 Apr 15;115(15):e20-32. PubMed PMID: 20160163. Pubmed Central PMCID: 2858476.

38. Ferre AL, Hunt PW, McConnell DH, Morris MM, Garcia JC, Pollard RB, et al. HIV controllers with HLA-DRB1*13 and HLA-DQB1*06 alleles have strong, polyfunctional mucosal CD4+ T-cell responses. *Journal of virology*. 2010 Nov;84(21):11020-9. PubMed PMID: 20719952. Pubmed Central PMCID: 2953185.

39. Pereyra F, Addo MM, Kaufmann DE, Liu Y, Miura T, Rathod A, et al. Genetic and immunologic heterogeneity among persons who control HIV infection in the absence of therapy. *The Journal of infectious diseases*. 2008 Feb 15;197(4):563-71. PubMed PMID: 18275276.

40. Doria-Rose NA, Klein RM, Manion MM, O'Dell S, Phogat A, Chakrabarti B, et al. Frequency and phenotype of human immunodeficiency virus envelope-specific B cells from patients with broadly cross-neutralizing antibodies. *Journal of virology*. 2009 Jan;83(1):188-99. PubMed PMID: 18922865. Pubmed Central PMCID: 2612342.

41. Nakanishi Y, Lu B, Gerard C, Iwasaki A. CD8(+) T lymphocyte mobilization to virus-infected tissue requires CD4(+) T-cell help. *Nature*. 2009 Nov 26;462(7272):510-3. PubMed PMID: 19898495. Pubmed Central PMCID: 2789415.

42. Yang Y, Al-Mozaini M, Buzon MJ, Beamon J, Ferrando-Martinez S, Ruiz-Mateos E, et al. CD4 T-cell regeneration in HIV-1 elite controllers. *Aids*. 2012 Mar 27;26(6):701-6. PubMed PMID: 22301416.

43. Sedaghat AR, Rastegar DA, O'Connell KA, Dinso JB, Wilke CO, Blankson JN. T cell dynamics and the response to HAART in a cohort of HIV-1-infected elite suppressors. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2009 Dec 1;49(11):1763-6. PubMed PMID: 19857162. Pubmed Central PMCID: 2783537.

44. Chen H, Li C, Huang J, Cung T, Seiss K, Beamon J, et al. CD4+ T cells from elite controllers resist HIV-1 infection by selective upregulation of p21. *The Journal of clinical investigation*. 2011 Apr;121(4):1549-60. PubMed PMID: 21403397. Pubmed Central PMCID: 3069774.

45. Saez-Cirion A, Hamimi C, Bergamaschi A, David A, Versmisse P, Melard A, et al. Restriction of HIV-1 replication in macrophages and CD4+ T cells from HIV controllers. *Blood*. 2011 Jul 28;118(4):955-64. PubMed PMID: 21642597. Pubmed Central PMCID: 3148172.
46. Rabi SA, O'Connell KA, Nikolaeva D, Bailey JR, Jilek BL, Shen L, et al. Unstimulated primary CD4+ T cells from HIV-1-positive elite suppressors are fully susceptible to HIV-1 entry and productive infection. *Journal of virology*. 2011 Jan;85(2):979-86. PubMed PMID: 21068257. Pubmed Central PMCID: 3020020.
47. O'Connell KA, Rabi SA, Siliciano RF, Blankson JN. CD4+ T cells from elite suppressors are more susceptible to HIV-1 but produce fewer virions than cells from chronic progressors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011 Sep 13;108(37):E689-98. PubMed PMID: 21873218. Pubmed Central PMCID: 3174588.
48. Tilton JC, Luskin MR, Johnson AJ, Manion M, Hallahan CW, Metcalf JA, et al. Changes in paracrine interleukin-2 requirement, CCR7 expression, frequency, and cytokine secretion of human immunodeficiency virus-specific CD4+ T cells are a consequence of antigen load. *Journal of virology*. 2007 Mar;81(6):2713-25. PubMed PMID: 17182676. Pubmed Central PMCID: 1865970.
49. Betts MR, Ambrozak DR, Douek DC, Bonhoeffer S, Brenchley JM, Casazza JP, et al. Analysis of total human immunodeficiency virus (HIV)-specific CD4(+) and CD8(+) T-cell responses: relationship to viral load in untreated HIV infection. *Journal of virology*. 2001 Dec;75(24):11983-91. PubMed PMID: 11711588. Pubmed Central PMCID: 116093.
50. Hunt PW, Brenchley J, Sinclair E, McCune JM, Roland M, Page-Shafer K, et al. Relationship between T cell activation and CD4+ T cell count in HIV-seropositive individuals with undetectable plasma HIV RNA levels in the absence of therapy. *The Journal of infectious diseases*. 2008 Jan 1;197(1):126-33. PubMed PMID: 18171295. Pubmed Central PMCID: 3466592.
51. Owen RE, Heitman JW, Hirschhorn DF, Lanteri MC, Biswas HH, Martin JN, et al. HIV+ elite controllers have low HIV-specific T-cell activation yet maintain strong, polyfunctional T-cell responses. *Aids*. 2010 May 15;24(8):1095-105. PubMed PMID: 20400885. Pubmed Central PMCID: 2972651.
52. Emu B, Sinclair E, Hatano H, Ferre A, Shacklett B, Martin JN, et al. HLA class I-restricted T-cell responses may contribute to the control of human immunodeficiency virus infection, but such responses are not always necessary for long-term virus control. *Journal of virology*. 2008 Jun;82(11):5398-407. PubMed PMID: 18353945. Pubmed Central PMCID: 2395228.
53. Potter SJ, Lacabartz C, Lambotte O, Perez-Patrigion S, Vingert B, Sinet M, et al. Preserved central memory and activated effector memory CD4+ T-cell subsets in human immunodeficiency virus controllers: an ANRS EP36 study. *Journal of virology*. 2007 Dec;81(24):13904-15. PubMed PMID: 17928341. Pubmed Central PMCID: 2168869.
54. Vingert B, Perez-Patrigion S, Jeannin P, Lambotte O, Boufassa F, Lemaitre F, et al. HIV controller CD4+ T cells respond to minimal amounts of Gag antigen due to high TCR avidity. *PLoS pathogens*. 2010 Feb;6(2):e1000780. PubMed PMID: 20195518. Pubmed Central PMCID: 2829066.
55. Porichis F, Kaufmann DE. HIV-specific CD4 T cells and immune control of viral replication. *Current opinion in HIV and AIDS*. 2011 May;6(3):174-80. PubMed PMID: 21502921. Pubmed Central PMCID: 3265969.
56. D'Souza M, Fontenot AP, Mack DG, Lozupone C, Dillon S, Meditz A, et al. Programmed death 1 expression on HIV-specific CD4+ T cells is driven by viral replication and associated with T cell dysfunction. *Journal of immunology*. 2007 Aug 1;179(3):1979-87. PubMed PMID: 17641065.
57. Kaufmann DE, Kavanagh DG, Pereyra F, Zaunders JJ, Mackey EW, Miura T, et al. Upregulation of CTLA-4 by HIV-specific CD4+ T cells correlates with disease

progression and defines a reversible immune dysfunction. *Nature immunology*. 2007 Nov;8(11):1246-54. PubMed PMID: 17906628.

58. Brandt L, Benfield T, Mens H, Clausen LN, Katzenstein TL, Fomsgaard A, et al. Low level of regulatory T cells and maintenance of balance between regulatory T cells and TH17 cells in HIV-1-infected elite controllers. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 2011 Jun 1;57(2):101-8. PubMed PMID: 21407087.

59. Genovese L, Nebuloni M, Alfano M. Cell-Mediated Immunity in Elite Controllers Naturally Controlling HIV Viral Load. *Frontiers in immunology*. 2013;4:86. PubMed PMID: 23577012. Pubmed Central PMCID: 3620550.

60. Li D, Chen J, Jia M, Hong K, Ruan Y, Liang H, et al. Loss of balance between T helper type 17 and regulatory T cells in chronic human immunodeficiency virus infection. *Clinical and experimental immunology*. 2011 Sep;165(3):363-71. PubMed PMID: 21707592. Pubmed Central PMCID: 3170985.

61. Almeida JR, Price DA, Papagno L, Arkoub ZA, Sauce D, Bornstein E, et al. Superior control of HIV-1 replication by CD8+ T cells is reflected by their avidity, polyfunctionality, and clonal turnover. *The Journal of experimental medicine*. 2007 Oct 1;204(10):2473-85. PubMed PMID: 17893201. Pubmed Central PMCID: 2118466.

62. Saez-Cirion A, Sinet M, Shin SY, Urrutia A, Versmisse P, Lacabartz C, et al. Heterogeneity in HIV suppression by CD8 T cells from HIV controllers: association with Gag-specific CD8 T cell responses. *Journal of immunology*. 2009 Jun 15;182(12):7828-37. PubMed PMID: 19494307.

63. Saez-Cirion A, Lacabartz C, Lambotte O, Versmisse P, Urrutia A, Boufassa F, et al. HIV controllers exhibit potent CD8 T cell capacity to suppress HIV infection ex vivo and peculiar cytotoxic T lymphocyte activation phenotype. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007 Apr 17;104(16):6776-81. PubMed PMID: 17428922. Pubmed Central PMCID: 1851664.

64. Betts MR, Nason MC, West SM, De Rosa SC, Migueles SA, Abraham J, et al. HIV nonprogressors preferentially maintain highly functional HIV-specific CD8+ T cells. *Blood*. 2006 Jun 15;107(12):4781-9. PubMed PMID: 16467198. Pubmed Central PMCID: 1895811.

65. Lopez M, Soriano V, Peris-Pertusa A, Rallon N, Restrepo C, Benito JM. Elite controllers display higher activation on central memory CD8 T cells than HIV patients successfully on HAART. *AIDS research and human retroviruses*. 2011 Feb;27(2):157-65. PubMed PMID: 20964478.

66. Hersperger AR, Migueles SA, Betts MR, Connors M. Qualitative features of the HIV-specific CD8+ T-cell response associated with immunologic control. *Current opinion in HIV and AIDS*. 2011 May;6(3):169-73. PubMed PMID: 21399496.

67. Ndhlovu ZM, Proudfoot J, Cesa K, Alvino DM, McMullen A, Vine S, et al. Elite controllers with low to absent effector CD8+ T cell responses maintain highly functional, broadly directed central memory responses. *Journal of virology*. 2012 Jun;86(12):6959-69. PubMed PMID: 22514340. Pubmed Central PMCID: 3393560.

Anexos

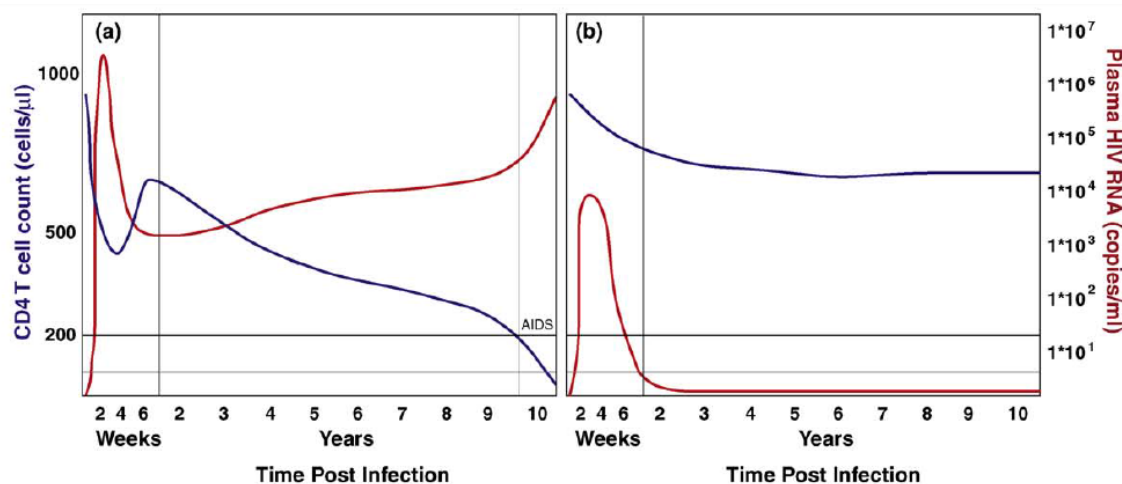


Figura 1. Adaptado de O'Connel et al. 2009 [65].

História Natural da Infecção por VIH-1

- (a) Representação da progressão da carga viral plasmáticas (vermelho) e das contagens de LT-CD4 (azul) num progressor normal. A SIDA define-se quando as contagens de LT-CD4 são inferiores a <200 céls./ μ L. O tempo pós-infecção está indicado em semanas e depois em meses, com a fase de infecção aguda indicada pelas semanas 2 a 6. A fase assintomática da infecção começa aproximadamente 6 meses após a infecção aguda.
- (b) Medições representativas da carga viral plasmática e contagens de LT-CD4 de um EC. A viremia plasmática atinge valores de 10^3 cópias/mL na fase aguda da infecção. Na fase assintomática os valores são <50 cópias/mL. A linha cinzenta representa 50 cópias/mL. As contagens de LT-CD4 mantêm-se relativamente estáveis, embora possam sofrer um ligeiro declínio como indicado na figura.

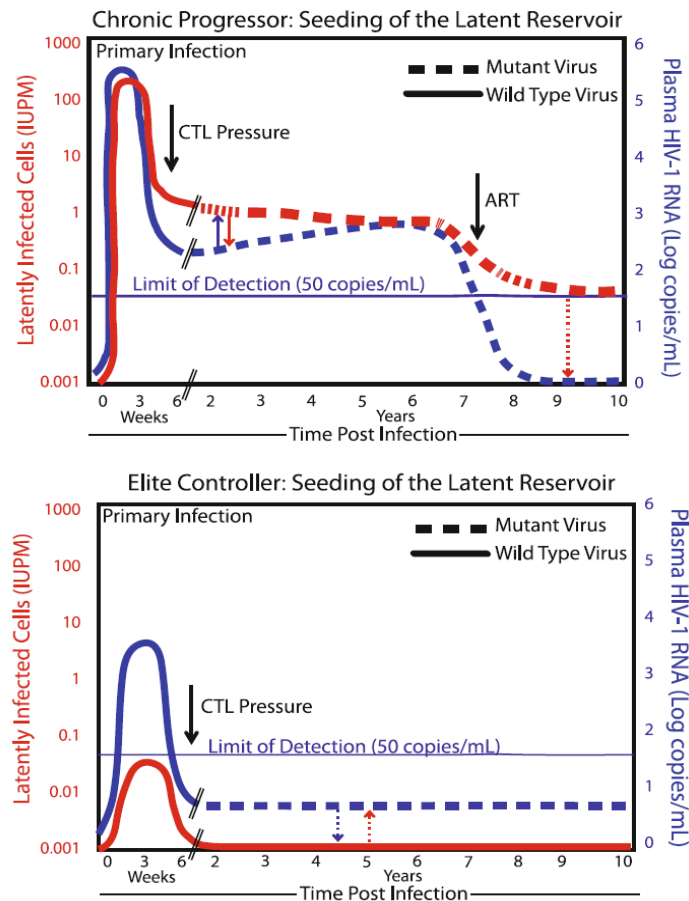


Figura 2. Adaptado de Buckheit *et al.* 2013 (11).

(IUPM- unidades infectadas por milhão)

Painel superior- História natural do progressor crônico: A infecção é caracterizada por uma robusta replicação viral durante a infecção aguda. À medida que aumentam os níveis virais de RNA plasmático (linha azul) há um aumento em paralelo do número de células latentes infectadas expresso em IUPM (linha vermelha). Uma queda, tanto nos níveis virais de RNA plasmático como nas IUPM ocorre quando se inicia a reposta imunitária, provavelmente devido à pressão dos LT-CD8 VIH-específicos (CTL's no painel). Sem TARV (ART no painel) a replicação continua e mutações de escape ocorrem cedo (linhas azul e vermelha tracejadas). Os altos níveis de replicação resultam num equilíbrio entre a disseminação para o reservatório latente e a reactivação a partir deste (setas azul e vermelha), permitindo a infecção do reservatório por vírus mutados provenientes de outros locais. Após o início de TARV a replicação activa é suspensa mas a reactivação do reservatório latente é responsável pela libertação de níveis baixos de vírus que são mais patogénicos, uma vez que ainda não estiveram sujeitos à pressão dos LT-CD8 sendo mais eficazes no escape ao seu controlo (seta vermelha tracejada).

Painel Inferior- História natural do EC: Durante a infecção aguda, os níveis virais de RNA plasmático aumentam, embora em níveis menores que os dos progressores (linha azul). A frequência de LT-CD4 latentes infectados aumenta em paralelo mas também para níveis inferiores aos dos progressores (linha vermelha). A pressão imposta pelos LT-CD8 dos EC reduz a replicação viral para níveis inferiores ao limiar de detecção. O escape viral ocorre cedo durante a infecção dos EC mas a disseminação para o reservatório é limitada (linha azul tracejada) pela pressão dos LT-CD8 o que faz com que maioria das sequências no reservatório não contenha mutações de escape.